

Title	Radiation sensitivity assay with a panel of patient-derived spheroids of small cell carcinoma of the cervix( Abstract_要旨 )
Author(s)	Nakajima, Aya
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2015-03-23
URL	<a href="http://dx.doi.org/10.14989/doctor.k18869">http://dx.doi.org/10.14989/doctor.k18869</a>
Right	This is the peer reviewed version of the following article: Nakajima, A., Endo, H., Okuyama, H., Kiyohara, Y., Kimura, T., Kamiura, S., Hiraoka, M. and Inoue, M. (2015), Radiation sensitivity assay with a panel of patient-derived spheroids of small cell carcinoma of the cervix. International Journal of Cancer, 136: 2949-2960. doi: 10.1002/ijc.29349, which has been published in final form at 10.1002/ijc.29349. This article may be used for non-commercial purposes in accordance with Wiley Terms and Conditions for Self-Archiving.
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	中 嶋 綾
論文題目	Radiation sensitivity assay with a panel of patient-derived spheroids of small cell carcinoma of the cervix (子宮頸部小細胞癌の患者由来スフェロイドパネルを用いた放射線感受性試験)		
(論文内容の要旨)			
<p>子宮頸部小細胞癌は悪性度が高い疾患であるが、子宮頸癌全体の 2%と稀であり、生物学的研究についての報告は極めて少ない。標準治療は存在せず、放射線治療は治療選択肢の一つとして用いられている。癌の放射線感受性は症例ごとに異なっているため、個々の患者の放射線感受性を予測するアッセイは治療方針決定に役立つと考えられるが、現時点でこのような感受性試験は確立していない。生体内での性質を保ったまま患者由来の腫瘍細胞を培養できれば、癌細胞の放射線に対する応答を直接評価可能であるが、従来多く用いられてきた二次元の初代培養法は患者腫瘍の性質を保持しているとはいえず、手技の煩雑さや非腫瘍細胞の混入も問題となる。</p> <p>Cancer tissue-originated spheroid (CTOS) 法は、細胞-細胞間接着を保ちながら癌細胞を高効率で分離・培養できる新しい三次元初代培養法である。本研究では、6 例の子宮頸部小細胞癌の手術検体から CTOS を調製した。6 例とも免疫不全マウスの皮下に CTOS を移植すると腫瘍を形成し、CTOS の継代が可能であった。CTOS とマウスの移植腫瘍はともに患者腫瘍の細胞形態と類似しており、小細胞癌の特徴である神経内分泌能を保持していた。</p> <p>次に上記の CTOS パネルを用いて放射線感受性試験を行った。X 線照射後 1 週間の CTOS の増大率を非照射コントロールと比較することで照射による増殖抑制効果を評価した。照射による増殖抑制は線量依存的で、感受性は症例間で異なっていた。CTOS の感受性は照射後の DNA 修復能やアポトーシス誘導とも関連していた。また、CTOS の放射線感受性は、マウス皮下移植腫瘍を用いた in vivo の感受性と同様の傾向を示した。</p> <p>次に、最も抵抗性を示した CTOS である cerv-5 に着目し、この症例での放射線抵抗性のメカニズムを解析した。マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析で、cerv-5 において Hypoxia-inducible factor-1<math>\alpha</math> (HIF-1<math>\alpha</math>) の標的遺伝子群の発現が他の CTOS と比較して有意に上昇していることがわかった。HIF-1<math>\alpha</math> タンパクの発現レベルは、定常状態ではいずれの CTOS においても検出感度以下であったが、多くの CTOS において照射後 4 時間でタンパク発現が上昇し、放射線抵抗性の cerv-5 では特に強い発現を認めた。また、この発現上昇は heat-shock protein-90 (HSP-90) 阻害剤である 17-AAG によって抑制された。</p> <p>cerv-5 において 17-AAG は放射線との併用で増感効果を示した。さらに、small hairpin RNA を用いて HIF-1<math>\alpha</math> の発現抑制を行ったところ、放射線感受性が上昇した。HIF-1<math>\alpha</math> をノックダウンした cerv-5 では照射後のアポトーシスが增強していた。以上の結果から、cerv-5 では HSP-90 を介した照射後の HIF-1<math>\alpha</math> タンパク発現上昇し、アポトーシスを抑制することで放射線抵抗性の機序に関与していることが示唆された。</p> <p>本研究では子宮頸部小細胞癌の患者由来スフェロイド培養のパネルを作成し、これを応用した感受性試験や個別化医療の可能性を論じた。子宮頸部小細</p>			

<p>胞癌の CTOS 調製・培養の成功率は 100% (6/6) であり、CTOS 法は希少疾患である本疾患の初代培養に適していると考えられた。CTOS パネルは患者間の多様性を保持しており、症例を蓄積することで放射線や薬物の有効性評価や新しい治療法の開発のプラットフォームになることが期待される。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>子宮頸部小細胞癌 (SCCC) は悪性度が高く稀な疾患である。また、癌の放射線感受性は症例ごとに異なるが、感受性を予測するアッセイは確立していない。本研究では、癌細胞の新しい初代三次元培養法である cancer tissue-originated spheroid (CTOS) 法により SCCC 患者由来スフェロイド培養パネルを作成し、これを用いた放射線感受性試験を開発するとともに、CTOS を用いて放射線抵抗性のメカニズムを解析した。</p> <p>SCCC の CTOS 調製・培養は 6 例全例で成功した。CTOS の放射線感受性は、X 線照射による増大抑制効果を測定することにより評価した。その結果、CTOS の感受性は症例間で異なり、<i>in vivo</i>の腫瘍の感受性と関連することを確認した。さらに、放射線抵抗性の CTOS では照射後に HIF-1<math>\alpha</math> のタンパク発現が強く誘導され、これに Hsp-90 が関与していた。HIF-1<math>\alpha</math> の発現抑制及び Hsp90 阻害剤が放射線増感作用を持つことから、HIF-1<math>\alpha</math> 発現上昇の放射線抵抗性への寄与が示唆された。SCCC の CTOS は、患者間の多様性を保持していると考えられ、希少疾患である本疾患の生物学的研究のプラットフォームになることが期待される。</p> <p>以上の研究は、患者癌由来スフェロイド培養を用いた感受性試験や新しい治療法の開発の可能性を示すものであり、今後の癌の個別化医療の発展に寄与するところが大い。</p> <p>したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 2 7 年 1 月 2 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日以降			